

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ВЗАИМОАДАПТАЦИИ
ЧУМНОГО МИКРОБА С ОРГАНИЗМОМ БЛОХ

К. И. Кондрашкина, И. И. Кураев и Г. А. Захарова

Всесоюзный научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов

Зараженные микробами чумы блохи потребляли кислорода в 1.3—2 раза меньше, чем незараженные. Через пять дней после заражающего кормления блохи теряли 1/4 веса тела. Эти показатели свидетельствуют о нарушении метаболических процессов у зараженных насекомых.

Очищение блох от микробов чумы связано не только с механическим их выведением при дефекации, но и с физиологическим процессом образования в организме насекомых лизирующего вещества в ответ на введение микроба.

Литературные данные о влиянии микробов чумы на организм блохи разноречивы. Так, Дуглас и Уилер (Douglas and Wheeler, 1943) сообщили о том, что большое количество микробов вызывает у блох токсемию. Наоборот, по мнению Флегонтовой (1951), продолжительность жизни зараженных, но не заблокированных блох ничем не отличается от таковой здоровых особей. Пожалуй, единодушным является лишь мнение о сокращении срока заблокированных блох.

Известно, что развитие инфекционного процесса у теплокровных животных при внедрении заразного начала сопровождается изменением уровня обмена веществ. В свете этого представляет интерес изучение метаболических процессов у насекомых — переносчиков возбудителей природно-очаговых болезней. Установлено также, что уровень газообмена у насекомых в значительной мере определяется температурой среды. Значение этого фактора в изменении интенсивности обмена веществ у блох было показано Кондрашкиной и Дудниковой (1962, 1964).

Цель настоящей работы — изучить действие на газообмен блох другого фактора — возбудителя чумы, с которым эти насекомые имеют глубокую историческую связь как переносчики возбудителя в природных очагах. Наряду с этим важно выяснить, влияет ли организм переносчика на проникшие в кишечник последнего микробы и связаны ли с этим известные факты освобождения некоторой части зараженных блох от возбудителя чумы.

Изучение степени взаимoaдаптации этих двух организмов, возможно, даст исследователям новые критерии для оценки роли отдельных видов блох в природных очагах чумы разного типа и в каждом отдельном очаге в разные периоды его существования.

Критериями физиологического состояния зараженных блох в наших опытах служили показатель потребления кислорода этими насекомыми и вес их тела. Ответная же реакция блох на внедрение возбудителя чумы оценивалась по образованию у некоторых из них лизирующего вещества.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

В опытах по изучению потребления кислорода зараженными переносчиками были использованы блохи четырех видов: *Neopsylla setosa*, *Xenopsylla cheopis*, *Ceratophyllus laeviceps* и *C. tesquorum*, выращенные в лабора-

торном питомнике. В контроле изучали газообмен незараженных блох из той же партии выплода, что и зараженные особи.

Белых мышей (прокормители блох) заражали дозой в 1 млн. микробных клеток (м. кл.) вирулентного штамма возбудителя чумы № 380, выделенного специалистами Араломорской противочумной станции в 1959 г. от больших песчанок. DCI этого штамма для морских свинок составляла 100 м. кл. Подопытных блох подсаживали на больного грызуна в период агонии, когда в крови мыши обнаруживалось до 20—40 м. кл. в поле зрения микроскопа. Одновременно с заражающим кормлением подопытных блох контрольную группу кормили на здоровом грызуне. После кормления как у подопытных, так и у контрольных блох определялась под микроскопом степень насыщения кровью. Отобранных пивших особей выдерживали в течение пяти суток при 20—22° без подкормки. По истечении этого срока блох группами от 20 до 50 особей, помещенных в мешочки из шелкового газа, взвешивали на торсионных весах. В тех же мешочках блох помещали в микрореспирометры, в которых и проводили определение интенсивности потребляемого кислорода одновременно у опытных (кормившихся на чумной мыши) и контрольных (кормившихся на здоровой мыши) особей. Опыты проводились при 20°.¹ На следующий день опытных блох индивидуально исследовали на зараженность возбудителем чумы. Поскольку число зараженных особей (давших на агаре обильный или сливной рост чумных микробов) обычно составляло 50—70%, при окончательном расчете потребленного кислорода такими блохами приходилось вносить поправку на те экземпляры, которые оказались свободными от возбудителя или содержали единичные микробные клетки.

Условия образования лизирующего вещества мы изучали на здоровых и зараженных блохах *N. setosa* и *X. cheopis*. Блох и в этих случаях заражали путем кормления на агонирующих чумных белых мышах или в специальном аппарате через мембрану. Каждую зараженную блоху растирали по отдельности в мелких тигельках в капле физиологического раствора. Для выявления лизирующего вещества мы, по методу Соколовой (1959), наносили суспензии растертых здоровых или зараженных блох на газоны, засеянные культурой авирулентного чумного штамма ЕВ. Параллельно с этим суспензии зараженных блох (1—2 петли) высевали на агаровые пластинки, чтобы проверить сохранение в них возбудителя чумы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Показатели метаболических процессов у зараженных и незараженных блох. Как показали опыты, интенсивность потребления кислорода зараженными блохами всех четырех изученных нами видов была значительно меньшей по сравнению со здоровыми особями. Чумной микроб оказывал угнетающее влияние на обмен веществ как самок, так и самцов блох. В наших опытах особенно большая разница в потреблении кислорода наблюдалась у самцов рода *Ceratophyllus* (табл. 1). «Болезненное» состояние блох выражалось не только в нарушении газообмена, но и, по-видимому, в нарушении водного обмена. Именно этим мы склонны объяснить значительное падение веса тела зараженных блох на пятые сутки после кормления. За этот срок зараженные блохи по сравнению со здоровыми теряли в среднем 1/4 своего веса.

Таким образом, учитывая определенное снижение некоторых показателей обмена веществ зараженных особей, адаптацию организма блохи к чумному микробу нельзя считать совершенной. Блоха, содержащая в своем кишечнике большое количество микробных клеток, испытывает явное угнетение жизненных процессов. К такому же выводу пришли

¹ Подробно методика изучения потребления кислорода блохами описана в работе Кондрашкиной и Дудниковой (1962).

Таблица 1

Интенсивность потребления кислорода (в микролитрах на 1 мг веса тела за 1 час при 20°) и изменение весовых показателей зараженных и незараженных блох

Виды блох	Пол	Количественные показатели						Кратность снижения потребле- ния O ₂ заражен- ными блохами
		опытная группа (зараженные блохи)			контрольная группа (незараженные особи)			
		число блох	средний вес тела	потреб- ление O ₂	число блох	средний вес тела	потреб- ление O ₂	
<i>N. setosa</i>	Самки	141	0.342	0.607	237	0.463	0.859	1.4
	Самцы	112	0.235	0.953	139	0.343	1.247	1.3
<i>X. cheopis</i>	Самки	72	0.308	0.436	81	0.431	0.709	1.6
	Самцы	73	0.280	0.529	41	0.280	0.743	1.4
<i>C. laeviceps</i>	Самки	103	0.259	0.802	250	0.369	1.189	1.4
	Самцы	42	0.207	0.819	130	0.247	1.698	2.0
<i>C. tesquorum</i>	Самки	51	0.438	1.506	150	0.457	1.907	1.3
	Самцы	56	0.337	1.279	46	0.347	2.147	1.7

Бибикова и Хрущелевская (1967) на основании наблюдений за жизнедеятельностью блох и продолжительностью жизни зараженных, но не имеющих признаков блока блох.

2. Условия образования лизирующего вещества в организме блох. Известно, что значительная часть экспериментально зараженных блох (а по-видимому, и зараженных в природе) вскоре (через несколько дней) освобождается от микробов чумы. Известны также случаи обнаружения возбудителя чумы в фекалиях блох, что указывает на возможность механического способа удаления заразного начала из кишечника этих насекомых. Однако есть основание предполагать о существовании активных физиологических механизмов очищения блох от возбудителя чумы. Об этом свидетельствуют данные Соколовой (1958), обнаружившей у блох во время и вскоре после эпизодов в природных условиях вещества, лизирующего чумные микробы. С целью выяснения условий образования этого вещества в организме блох нами были испытаны на газонах, засеянных культурой авирулентного чумного микроба штамма ЕВ, суспензии 5 240 незараженных голодных и накормленных блох, культивированных в лабораторном питомнике. Суспензии всех таких здоровых блох ни в одном случае не проявили лизирующего действия на чумных микробов штамма ЕВ. Эти опыты показали, что в организме блох, не имевших контакта с возбудителем чумы, нет условий для образования лизирующего вещества. Совершенно другие результаты были получены в аналогичных опытах с суспензиями зараженных блох *N. setosa* и *X. cheopis* (табл. 2). Из 25 блох *N. setosa*, исследованных через двое суток после заражающего кормления, от четырех был получен рост микроба чумы, а суспензии девяти блох лизировали ЕВ. Суспензии же 12 блох не дали ни роста возбудителя на чистом агаре, ни лизиса на газонах с ЕВ. Сходные результаты были получены и в опыте с таким же количеством блох *X. cheopis*, исследованных через восемь суток после заражающего кормления.

Блох, не давших ни роста, ни лизиса в обоих опытах, можно считать, по-видимому, незаразившимися.

Эти опыты показывают, что в организме блох при первом контакте с чумным микробом вскоре после заражающего кормления вырабатывается лизирующее вещество. Интересно отметить, что при случайном загрязнении одного газона с ЕВ посторонней микрофлорой рост последней быстро распространился по всему газону, за исключением места нанесения суспензии блохи *N. setosa*. Это подтверждает данные Соколовой о неспецифическом действии лизирующего вещества, содержащегося в блохах.

Т а б л и ц а 2

Зараженность и лизогенность суспензий некоторых видов блох

№ опытов	Виды блох	Способ заражения	Условия содержания после заражающего кормления	Сроки после заражающего кормления (в днях)	Число исследованных особей	Из них	
						дали рост микроба чумы	лизировали ЕВ
1	<i>N. setosa</i>	Кормление на больном грызуне	Не подкармливались	2	25	4	9
2	<i>X. cheopis</i>	То же	То же	8	25	2	11
3	<i>N. setosa</i>	Через мембрану	Подкармливали через 5 дней	15	25	5*	2*
4	<i>X. cheopis</i>	Кормление на больном грызуне	Подкармливали через 8 дней	16	25	13	0

В третьем и четвертом опытах были исследованы блохи, получившие после заражающего кормления одну подкормку на здоровом грызуне. В третьем опыте блох *N. setosa* заражали через мембрану очень большой дозой возбудителя чумы (66 млрд. микробных клеток в 1 мл). Известно, что таким способом блохи заражаются в 100% случаев. Естественно было предположить, что при исследовании таких блох через несколько дней после заражающего кормления будет получено большее число случаев роста чумных микробов, или лизиса ЕВ. Однако наши ожидания не оправдались. Из 25 блох *N. setosa*, исследованных через 15 дней после заражающего кормления, лишь в пяти случаях был получен сливной рост возбудителя чумы и только в двух случаях — лизис на газоне с ЕВ. Суспензии 19 блох не показали ни роста, ни лизиса. Поскольку через пять дней после заражающего кормления эти блохи подкармливались на здоровом грызуне, возникло предположение о возможности промывания кишечника переносчика свежими порциями крови и освобождения его от лизирующего вещества. С целью проверки этого предположения в четвертом опыте было исследовано 25 особей *X. cheopis* на 16-й день после заражающего кормления из партии зараженных блох, частично использованных во втором опыте. Через восемь дней после заражающего кормления этих оставшихся блох подкармлили на здоровом грызуне. Суспензии этих блох в 13 случаях, против двух во втором опыте, дали рост микроба чумы, а 12 суспензий (как во втором опыте) не обнаружили ни роста, ни лизиса. Данные последнего опыта свидетельствуют о том, что поступление свежих порций крови здоровых грызунов стимулирует рост чумных микробов и способствует освобождению (промыванию) кишечника блох от лизирующего вещества.

Таким образом, в организме зараженной блохи происходят взаимно противоречивые процессы. С одной стороны, действуют факторы, направленные на подавление проникшего в кишечник микроба чумы (образование лизирующего вещества), с другой — факторы, способствующие промыванию кишечника блохи от лизирующего вещества и размножению возбудителя. Конкретные условия существования и в первую очередь возможность осуществления питания зараженных блох на здоровых грызунах могут существенно влиять на активность этих эктопаразитов в развитии эпизоотии.

Интересно отметить, что в одном случае в третьем опыте (табл. 2) суспензия одной и той же блохи *N. setosa* на чистом газоне дала сливной рост возбудителя чумы, а на газоне с ЕВ — лизис авирулентных микробов.

* Суспензия одной блохи на чистом газоне дала рост чумных микробов, а на газоне, засеянном культурой ЕВ, — лизис.

Это был единственный случай в наших опытах одновременного обнаружения в организме переносчика вирулентных микробов чумы и лизирующего вещества. Среди прочих можно высказать и такое предположение, что в данном случае образовавшееся лизирующее вещество оказалось недостаточно действенным для вирулентных клеток возбудителя, полученных блохой, но достаточно активным для штамма ЕВ. Если это окажется верным, можно будет говорить о возможности отбора вирулентных клеток в организме блохи из штаммов с неоднородным клеточным составом, циркулирующих в природе.

ВЫВОДЫ

1. Большое количество микробных клеток оказывает токсическое влияние на организм блохи. Зараженные блохи в наших опытах потребляли в 1.3—2 раза меньше кислорода, чем здоровые, и теряли за 5 суток после заражающего кормления около 1/4 своего веса.

2. Освобождение блох от микробов чумы связано не только с механическим выведением последних при дефекации, а и с активным процессом образования у этих эктопаразитов лизирующего вещества в ответ на введение заразного начала.

3. Свежие порции крови, поступающие в желудок зараженных блох при кровососании на здоровых грызунах, являясь питательной средой для размножения микробов, способствуют наряду с этим промыванию пищеварительного тракта переносчиков от лизирующего вещества.

Л и т е р а т у р а

- Б и б и к о в а В. А. и Х р у с ц е л е в с к а я Н. М. 1967. Взаимоотношения возбудителя и переносчика на примере чумы. ЖМЭИ, 2 : 111—116.
- К о н д р а ш к и н а К. И. и Д у д н и к о в а А. Ф. 1962. Потребление кислорода сусликовыми блохами как физиологический тест их жизнеспособности. В кн.: Особо опасные и природно-очаговые инфекции: 63—69.
- К о н д р а ш к и н а К. И. и Д у д н и к о в а А. Ф. 1964. Сравнительный анализ количественных показателей потребления кислорода разными видами блох. Зоол. журн., 13 (12) : 1874—1876.
- С о к о л о в а Н. М. 1959. Выделение от эктопаразитов лизирующего вещества, симулирующего чумной бактериофаг. Тр. инст. «Микроб» : 93—97.
- Ф л е г о н т о в а А. А. 1951. Экспериментальное изучение инфекционного потенциала некоторых видов блох, паразитирующих на сусликах и песчанках. Тр. инст. «Микроб», 1 : 192—205.
- D o u g l a s J. R. and W h e e l e r C. M. 1943. Sylvatic plague studies. II. The fate of *Pasteurella pestis* in the flea. The Journ. of Infect. Dis. 72.

ON THE INTERADAPTATION BETWEEN THE PLAGUE MICROBE AND FLEAS

K. I. Kondrashkina, I. I. Kuraev and G. A. Zacharova

S U M M A R Y

Judging by the decrease in oxygen consumption and reduced body weight of infected fleas, microbes of plague exert a toxic effect on them. In response to the inoculation of the microbes a lysogenous substance is formed in fleas that favours the purification of most of infected specimens from the agent of plague.